

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In re Patent Application of:  
Minoru Yamaguchi et al.

Application No.: NEW APPLICATION

Confirmation No.: N/A

Filed: March 10, 2004

Art Unit: N/A

For: METHOD FOR DETERMINING AMINO ACID  
SEQUENCE OF A PEPTIDE

Examiner: Not Yet Assigned

**CLAIM FOR PRIORITY AND SUBMISSION OF DOCUMENTS**

MS Patent Application  
Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

Dear Sir:

Applicant hereby claims priority under 35 U.S.C. 119 based on the following prior foreign application filed in the following foreign country on the date indicated:

<u>Country</u>	<u>Application No.</u>	<u>Date</u>
Japan	2003-064735	March 11, 2003

In support of this claim, a certified copy of the said original foreign application is filed herewith. Applicant believes no fee is due with this response.

Dated: March 10, 2004

Respectfully submitted,

By 

David T. Nikaido

Registration No.: 22,663

Lee Cheng

Registration No.: 40,949

RADER, FISHMAN & GRAUER PLLC

1233 20th Street, N.W., Suite 501

Washington, DC 20036

(202) 955-3750

Attorney for Applicant



日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

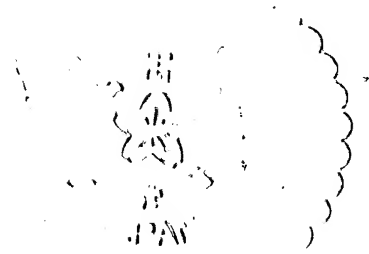
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日                      2 0 0 3 年    3 月 1 1 日  
Date of Application:

出 願 番 号                      特 願 2 0 0 3 - 0 6 4 7 3 5  
Application Number:  
[ST. 10/C]:                      [ J P 2 0 0 3 - 0 6 4 7 3 5 ]

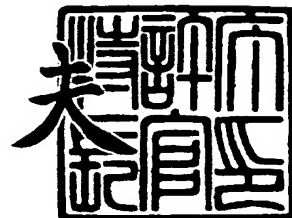
出      願      人                      株式会社島津製作所  
Applicant(s):



2 0 0 4 年    1 月 2 9 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号    出証特 2 0 0 4 - 3 0 0 4 0 3 4



【書類名】 特許願

【整理番号】 K1020712

【提出日】 平成15年 3月11日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 33/00

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内

【氏名】 網澤 進

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内

【氏名】 山口 実

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内

【氏名】 安藤 英治

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府茨木市北春日丘四丁目 9 番 1 号

【氏名】 乗岡 茂巳

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府大阪市此花区西九条 1 - 2 9 - 7 - 9 0 2

【氏名】 上山 憲一

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府大阪市天王寺区上本町 1 - 1 - 1 6 - 8 0 3

【氏名】 岡村 高明

【発明者】

【住所又は居所】 奈良県奈良市西包永町 3 1 - 4 0 4

【氏名】 中澤 隆



【特許出願人】

【識別番号】 000001993

【氏名又は名称】 株式会社 島津製作所

【電話番号】 075-823-1111

【代理人】

【識別番号】 100100561

【弁理士】

【氏名又は名称】 岡田 正広

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 064002

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要



【書類名】 明細書

【発明の名称】 ペプチドのアミノ酸配列決定法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 解析すべきペプチド、又は前記解析すべきペプチドを必要に応じ断片化して得られたペプチド断片の N 末端に、側鎖に酸性基を有するアミノ酸のアミノ基が保護基で保護されたアミノ酸誘導体を結合させ、質量分析法によってペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【請求項 2】 前記酸性基が、カルボキシ基、スルホ基、ホスホ基、硫酸基、及びリン酸基からなる群から選ばれる、請求項 1 に記載のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【請求項 3】 前記アミノ酸が、システイン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、リン酸化スレオニン、リン酸化セリン、硫酸化チロシン、及びリン酸化チロシンからなる群から選ばれる、請求項 1 又は 2 に記載のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【請求項 4】 前記保護基が塩基性基を有しない官能基である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【請求項 5】 前記保護基が、ビオチニル基、アセチル基、ホルミル基、及びフェニルイソチオカルバミル基からなる群から選ばれる、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【請求項 6】 前記保護基がビオチニル基である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【請求項 7】 前記アミノ酸誘導体が N-ビオチニルシステイン酸である、請求項 1 に記載のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【請求項 8】 前記断片化を、塩基性アミノ酸残基の C 末端を特異的に加水分解する酵素を用いて行う、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【請求項 9】 前記アミノ酸誘導体が結合したペプチド又はペプチド断片をイオン化させると共に分解イオンを発生させ、質量分析法により分離検出する、

請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【請求項 10】 前記アミノ酸誘導体が結合したペプチド又はペプチド断片をマトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI) によってイオン化させる、請求項 9 に記載のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【請求項 11】 飛行時間型質量分析法 (TOFMS) によって、イオンを分離検出する、請求項 9 又は 10 に記載のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ペプチドのアミノ酸配列の決定法に関する。

【0002】

【従来の技術】

従来より、質量分析法によるペプチドのアミノ酸配列決定方法としては、MALDI-TOF 質量分析装置で、解析すべきペプチドをイオン化させ、発生したイオン (プレカーサーイオン) が飛行途中で自然に分解した種々のポストソース分解 (Post Source Decay; PSD) イオンを分離検出することによって行うポストソース分解法 (PSD 法) を用いて MS/MS 分析を行う方法や、ESI-Q-TOF 質量分析装置で MS/MS 分析を行う方法等がある。これらの方法においては、ペプチドのプレカーサーイオンを選択し装置内でフラグメントイオンに分解し、得られたペプチド断片からアミノ酸配列情報を得る。しかし、これらの方法による分解においては、ペプチド結合が分解されるだけでなく、ペプチド結合以外の部位でも分解が起こり、複雑なペプチド断片混合物が得られることがある。そして、得られるスペクトルにおいては、それら断片のそれぞれのスペクトルが混合する上に、もとの解析すべきペプチドの N 末端を含む断片のスペクトルと C 末端を含む断片のスペクトルとが混合してあらわれる。このようなスペクトルは、一般的に複雑であり解析が困難である。最近では、「Mascot」 (<http://www.matrixscience.com/>) 等の検索エンジンを用いたデータベース検索を行い、このような複雑なスペクトルのパターンからペプチドの配列を決定する

ことも行われているが、データベースに登録されているペプチドにしか適応できないため、解析できるペプチドに限界がある。

#### 【0003】

また、特開平10-90226号公報においては、ペプチドのN末端やC末端に予め化学修飾を行い、フラグメントイオンを発生しやすくして得られるペプチド断片を簡素化し、MS/MS分析において修飾末端を含むペプチド断片を高感度に検出し、ペプチド断片の分子量差から直接アミノ酸配列を決定することも行われている。しかし、従来の化学修飾による方法は、フラグメントイオンへの分解の効率に限界があること、分解が起こる部位の選択性が不十分であること、ペプチドの内部配列によってはフラグメントイオンへの分解の効率及び分解が起こる部位の選択性が大きく左右されるため、解析できるペプチドに限界がある等の問題があった。

#### 【0004】

##### 【特許文献1】

特開平10-90226号公報

#### 【0005】

##### 【発明が解決しようとする課題】

そこで本発明の目的は、未知のペプチドを含む広範囲のペプチドに対してフラグメントイオンへの分解の効率及び分解が起こる部位の選択性に優れ、得られるフラグメントイオンを高感度かつハイスループットに検出することができる、質量分析装置を用いたペプチドのアミノ酸配列決定方法を提供することにある。

#### 【0006】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、鋭意検討した結果、解析すべきペプチド、又は前記解析すべきペプチドを必要に応じ断片化して得られたペプチド断片のN末端に、保護基で保護されたアミノ基と酸性基を有する側鎖有機基とを有するアミノ酸誘導体をカップリングし、PSD法やMS/MS分析を行うことによって、上記目的が達成されることを見出し、本発明を完成するに至った。

#### 【0007】

すなわち本発明は、解析すべきペプチド、又は前記解析すべきペプチドを必要に応じ断片化して得られたペプチド断片のN末端に、側鎖に酸性基を有するアミノ酸のアミノ基が保護基で保護されたアミノ酸誘導体を結合させ、質量分析法によってペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

なお、本明細書においてペプチドとは、タンパク質を含む意味で用いる。

#### 【0008】

本発明は、前記酸性基が、カルボキシル基、スルホ基、ホスホノ基、硫酸基、及びリン酸基からなる群から選ばれる、前記のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

#### 【0009】

本発明は、前記アミノ酸が、システイン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、リン酸化スレオニン、リン酸化セリン、硫酸化チロシン、及びリン酸化チロシンからなる群から選ばれる、前記のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

#### 【0010】

本発明は、前記保護基が、塩基性基を有しない官能基である、前記のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

本発明は、前記保護基が、ビオチニル基、アセチル基、ホルミル基、及びフェニルイソチオカルバミル基からなる群から選ばれる、前記のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

本発明は、前記保護基が、ビオチニル基である、前記のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

#### 【0011】

本発明は、前記アミノ酸誘導体が、N-ビオチニルシステイン酸である、前記のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

#### 【0012】

本発明は、前記断片化を、塩基性アミノ酸残基のC末端を特異的に加水分解する酵素を用いて行う、前記のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

#### 【0013】

本発明は、前記アミノ酸誘導体が結合したペプチド又はペプチド断片をイオン化させると共に分解イオンを発生させ、質量分析法により分離検出する、前記のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

#### 【0014】

本発明は、前記アミノ酸誘導体が結合したペプチド又はペプチド断片をマトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI) によってイオン化させる、前記のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

本発明は、飛行時間型質量分析法 (TOFMS) によって、イオンを分離検出する、前記のペプチドのアミノ酸配列を決定する方法である。

#### 【0015】

##### 【発明の実施の形態】

本発明のペプチドのアミノ酸配列決定方法は、解析すべきペプチドを必要に応じペプチド断片に断片化し、解析すべきペプチド又はペプチド断片のN末端に、後述のアミノ酸誘導体を結合させ、質量分析を用いて解析することによって行う。

なお、本発明において前記アミノ酸は、 $\alpha$ -アミノ酸、 $\beta$ -アミノ酸、 $\gamma$ -アミノ酸、 $\delta$ -アミノ酸のいずれであっても良い。

#### 【0016】

本発明において、解析すべきペプチドがタンパク質等の大きな分子である場合、断片化することが好ましい。断片化は、酵素消化によって行うことが好ましい。酵素を用いる場合は、塩基性アミノ酸残基のC末端を特異的に加水分解するものを用いることがより好ましい。このような酵素としては、トリプシン、プラスミン、トロンビン、リジルエンドペプチダーゼ、アルギニンエンドペプチダーゼ等が挙げられる。従って、断片化を行うことによって、C末端残基に塩基性基を有する形態のペプチド断片が得られる。得られたペプチド断片はC末端残基が塩基性であるため、C末端残基は水中でプロトン付加により正電荷を有する。ペプチド断片が前記形態を有することは、質量分析でペプチド断片のイオン化とともに分解イオンを発生させた際に、C末端残基がプロトン付加により正電荷を有するため、C末端残基を含むフラグメントイオンの発生が促進されるという点で好

ましい。

#### 【0017】

本発明においては、解析すべきペプチド、又は上記断片化を行った場合は断片化により得られたペプチド断片のN末端に、側鎖に酸性基を有するアミノ酸のアミノ基が保護基で保護されたアミノ酸誘導体を結合させる。このアミノ酸誘導体は、水中で、前記酸性基の解離による負電荷を有する。負電荷を有するアミノ酸誘導体をペプチド又はペプチド断片のN末端に結合させることによって、正電荷を有するフラグメントイオンの発生を容易にする効果がある。

#### 【0018】

酸性基としては、カルボキシル基 ( $\text{CO}_2\text{H}$ 基)、スルホ基 ( $\text{SO}_3\text{H}$ 基)、ホスホノ基 ( $\text{PO}_3\text{H}_2$ 基)、硫酸基 ( $\text{OSO}_3\text{H}$ 基)、リン酸基 ( $\text{OPo}_3\text{H}_2$ 基)等が挙げられる。

従って、前記アミノ酸としては、システイン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸等の酸性アミノ酸が挙げられる。また、リン酸化スレオニン、リン酸化セリン、硫酸化チロシン、リン酸化チロシン等の、水酸基含有アミノ酸の水酸基が硫酸化又はリン酸化されたアミノ酸も挙げられる。

#### 【0019】

保護基としては、理論上、水中で前記アミノ酸誘導体が分子全体として負電荷を失わないものであれば特に限定されないが、塩基性基を有しない官能基が好ましい。塩基性基は、前記酸性基と電荷を中和しアミノ酸誘導体分子全体として電荷を打ち消す場合があるためである。塩基性基を有しない官能基としては、具体的には、ビオチニル基、アセチル基、ホルミル基、フェニルイソチオカルバミル基等が挙げられる。本発明においては、特にビオチニル基が好ましい。

#### 【0020】

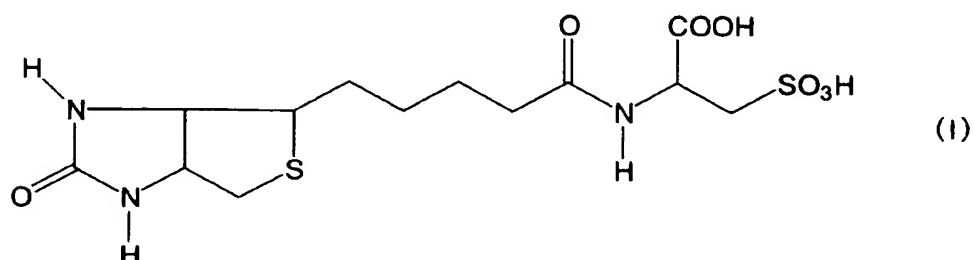
本発明において、上記保護基は、前記アミノ酸のアミノ基における正電荷の発生を抑え、前記アミノ酸誘導体が結合していない、正電荷をもつフラグメントイオンの発生を容易にする。上記保護基で保護されていないアミノ酸誘導体を用いると、前記アミノ酸のアミノ基の正電荷と側鎖の負電荷とが電荷を打ち消す場合があり、正電荷を有するフラグメントイオンの発生が困難となる。

## 【0021】

本発明において特に好ましい前記保護基で保護されたアミノ基と酸性基を有する側鎖有機基とを有するアミノ酸誘導体は、下記式 (I) で表される N-ビオチニルシステイン酸である。

## 【0022】

## 【化1】



## 【0023】

本発明において、前記アミノ酸誘導体を結合させるには、従来から公知のペプチド合成法を適用することができる。すなわち、液相法、固相法のいずれの合成法によってもアミノ酸を結合させることができる。これらの方法によって、前記アミノ酸誘導体が結合したペプチド又はペプチド断片（以下、単にペプチド分子と記載する）を得る。得られたペプチド分子は、質量分析によって解析を行う。

## 【0024】

ペプチド分子のイオン化方法としては、特に限定されるものではないが、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI)、エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)、高速原子衝撃法 (FAB)、液体二次イオン質量分析法 (LSIMS)、液体イオン化法 (LI) 等が挙げられる。

## 【0025】

MALDI法、FAB法、LSIMS法、LI法ではマトリックスを用いるので、マトリックスのみがレーザー光を吸収すれば良く、ペプチド分子自身が直接レーザー光を吸収する必要がないため、極めて多種類の化合物をイオン化することができるため好ましい。本発明においては、以下の特徴点を有することからM

MALDI法が特に好ましい。

(i)瞬時の(パルス)イオン化を行う。(ii)効率の高いイオン化が可能である。(iii)広範囲の化合物のイオン化が可能である。(iv)未精製や混合物状態の化合物のイオン化が可能である。

また、ESI法も、ペプチド分子を壊さずにイオン化し、分解イオンを発生させることができるため好ましい。

#### 【0026】

本発明においては、ペプチド分子をイオン化させるとともに分解イオンを発生させ、これらのイオンを質量分析法により分離検出することが好ましい。そこで

本発明においては、ペプチド分子を好ましくはMALDI法でイオン化させ、発生したプリカーサーイオンが分解したポストソース分解イオンを飛行時間型質量分析法(time of flight mass spectrometry, TOFMS)によって分離検出することができる。TOFMS法は、(i)高速:1スペクトル測定時間は、1ms未満である。(ii)高感度:スキャン不要であり、明るいイオン光学系である。(iii)広範囲の測定が可能:測定可能範囲は $0 < m/z < \infty$ である。(iv)安価:機械系は高精度不要で、構造が単純である。という特長点を有する。このようにTOFMSは、MALDIと多くの共通した特長を有し、MALDI-TOFMSは、相性の良いもの同士を組合わせた好ましい方法の一つである。すなわち本発明においては、ペプチド分子をMALDI法でイオン化させ、TOFMSによって、ポストソース分解イオンを分離検出することが特に好ましい。

#### 【0027】

本発明において、前記したアミノ酸誘導体を用いて、好ましくはMALDI-TOFMSによるMS/MS分析を行うことにより、前記解析すべきペプチドのC末端を含む断片(y系列)が選択的に高感度で検出可能となり、断片の分子量差から容易にアミノ酸配列を決定することができる。

#### 【0028】

##### 【実施例】

以下に実施例により本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれらにより限定されるものではない。

## 【0029】

## [実施例1]

## (1) N-ビオチニルシステイン酸の合成

スルホスクシンイミドビオチン 3.4 mg を 20  $\mu$ l の蒸留水に溶解したもの、システイン酸 1.1 mg を 15  $\mu$ l の蒸留水に溶解したもの、及び 1.65  $\mu$ l のトリエチルアミンを混合し、60℃で30分間反応させた。反応生成物を逆相 HPLC で精製し、目的の N-ビオチニルシステイン酸を MALDI-TOF MS で確認した。

## 【0030】

## (2) N-ビオチニルシステイン酸のペプチドへのカップリング

モデルペプチドとしてラミニンペンタペプチド ((株) ペプチド研究所社製) を用いた。ラミニンペンタペプチドのアミノ酸配列は、Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg-NH<sub>2</sub> である。上記配列においては、アルギニン残基がアミド化されており、アミド化されたアルギニン残基を Arg-NH<sub>2</sub> と表している。1 mM N-ビオチニルシステイン酸のジメチルホルムアミド溶液 2  $\mu$ l、0.5 M

HBTU (2-[1H-benzotriazole-1-yl]-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate) と 0.5 M HOBt (N-hydroxybenzotriazole) とを含むジメチルホルムアミド溶液 0.6  $\mu$ l、及び 1 M ジイソプロピルエチルアミンのジメチルホルムアミド溶液 0.6  $\mu$ l を予め混合し、2 mM ラミニンペンタペプチドのジメチルホルムアミド溶液 2  $\mu$ l に加え、室温で30分間反応を行った。反応終了後、反応溶液を 0.1% トリフルオロ酢酸水溶液で希釈し、MALDI-TOF MS によって PSD イオンの MS/MS 分析を行った。

## 【0031】

図1に、このときの MS/MS スペクトルチャートを示す。一方、図2には、N-ビオチニルシステイン酸が結合していないラミニンペンタペプチドを、MALDI-TOF MS による PSD イオンの MS/MS 分析を行ったときの MS/MS スペクトルチャートを示す。図1及び図2において、横軸はイオンの質量/電荷 ( ; Mass/Charge (m/z) )、縦軸はイオンの相対強度 (Int.) を表す。分解物ピーク上に示された [アルファベット1文字+括弧付数字] は、ペプチド結

合が分解を受けた部位を表すものであり、アルファベット y は、C 末端側のペプチド断片を表し、数字は残っているアミノ酸残基の数を表す。

図 1 においては、ラミニンペンタペプチドに結合した N-ビオチニルシステイン酸に由来するビオチン (Biotin) 及びシステイン酸 (Cysteic Acid) がそれぞれ脱離しており、ビオチニルシステイン酸での修飾を行わなかった図 2 に比べて、ペプチド分子の y 系列の断片が選択的に高感度に検出されている。

#### 【0032】

##### 【発明の効果】

本発明によれば、未知のペプチドを含む広範囲のペプチドに対してフラグメントイオンへの分解の効率及び分解が起こる部位の選択性に優れ、得られるフラグメントイオンを高感度かつハイスループットに検出することができる、質量分析装置を用いたペプチドのアミノ酸配列決定方法が提供される。

#### 【0033】

##### 【配列表】

#### SEQUENCE LISTING

<110> Shimadzu corp.

<120> method for determining amino acid sequence of peptide

<130> K1020713

<160> 1

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (5)

<223> AMIDATION

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: amidated peptide having sequence of metastasis-inhibiting active site in laminin

<400> 1

Tyr Ile Gly Ser Arg

1

5

#### 【 0 0 3 4 】

##### 【配列表フリーテキスト】

配列番号 1 は、ラミニンのガン転移抑制活性部位の配列を有するペプチドがアミド化されたものである。

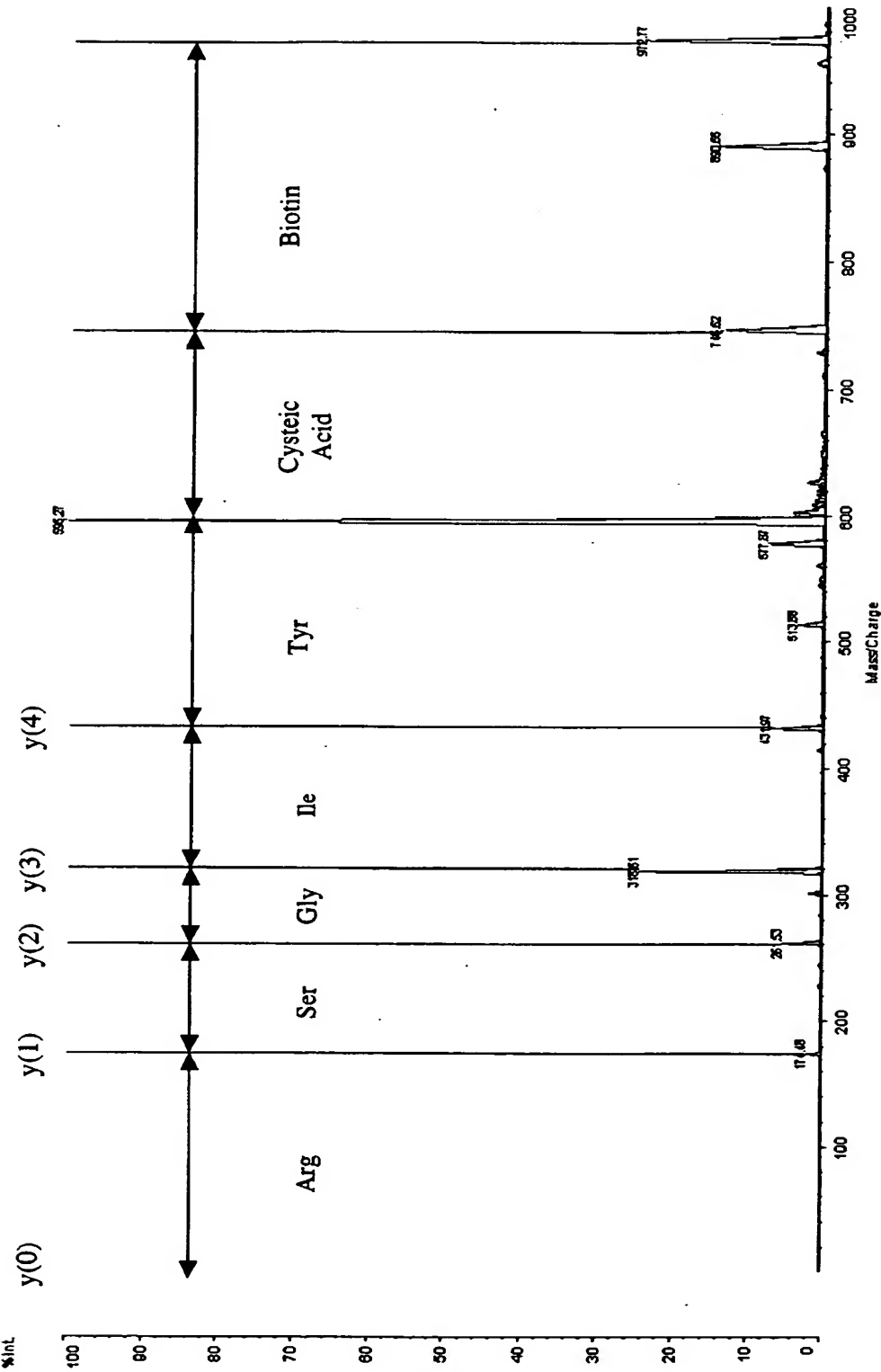
##### 【図面の簡単な説明】

【図 1】 N-ビオチニルシステイン酸がN末端に結合したラミニンペプチドのMS/MSスペクトルチャートである。

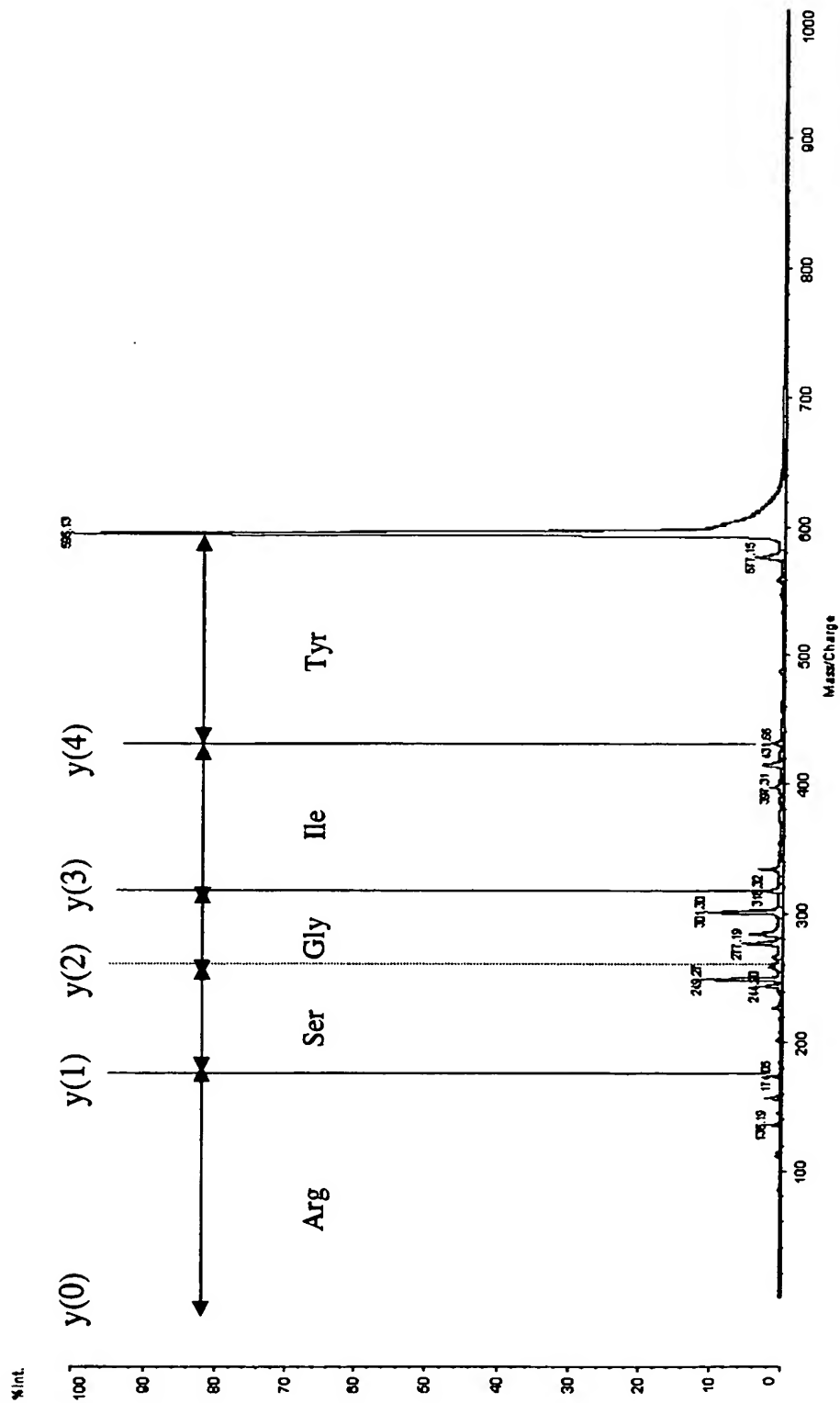
【図 2】 N-ビオチニルシステイン酸がN末端に結合していないラミニンペプチドのMS/MSスペクトルチャートである。

【書類名】 図面

【図 1】



【図 2】





【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 広範囲のペプチドに対してフラグメントイオンへの分解の効率及び分解が起こる部位の選択性に優れ、得られるフラグメントイオンを高感度かつハイスループットに検出することができる、質量分析装置を用いたペプチドのアミノ酸配列決定方法を提供する。

【解決手段】 解析すべきペプチド、又は前記解析すべきペプチドを必要に応じ断片化して得られたペプチド断片のN末端に、側鎖に酸性基を有するアミノ酸のアミノ基が保護基で保護されたアミノ酸誘導体を結合させ、質量分析法によってペプチドのアミノ酸配列を決定する方法。

【選択図】 図1

【書類名】 手続補正書  
【整理番号】 K1020712H  
【提出日】 平成15年 9月24日  
【あて先】 特許庁長官殿  
【事件の表示】  
【出願番号】 特願2003- 64735  
【補正をする者】  
【識別番号】 000001993  
【氏名又は名称】 株式会社 島津製作所  
【代理人】  
【識別番号】 100100561  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 岡田 正広  
【手続補正1】  
【補正対象書類名】 特許願  
【補正対象項目名】 発明者  
【補正方法】 変更  
【補正の内容】  
【発明者】  
【住所又は居所】 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内  
【氏名】 山口 実  
【発明者】  
【住所又は居所】 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内  
【氏名】 安藤 英治  
【発明者】  
【住所又は居所】 大阪府茨木市北春日丘四丁目 9 番 1 号  
【氏名】 乗岡 茂巳  
【発明者】  
【住所又は居所】 大阪府大阪市此花区西九条 1 - 2 9 - 7 - 9 0 2  
【氏名】 上山 憲一  
【発明者】  
【住所又は居所】 大阪府大阪市天王寺区上本町 1 - 1 - 1 6 - 8 0 3  
【氏名】 岡村 高明  
【発明者】  
【住所又は居所】 奈良県奈良市西包永町 3 1 - 4 0 4  
【氏名】 中澤 隆  
【その他】 発明者の変更（削除）の理由を述べます。本件特許出願に際し、出願人である株式会社 島津製作所より、発明者は「網澤進、山口実、安藤英治、乗岡茂巳、上山憲一、岡村高明、中澤隆」の 7 名である旨の連絡を受けました。しかしながら、本件特許出願の後日、株式会社 島津製作所より、「網澤進」は本件特許出願に係る発明者ではない旨の連絡がありました。そこで、「網澤進」を発明者から除く補正を行います。



【書類名】 手続補足書  
【提出日】 平成15年 9月25日  
【あて先】 特許庁長官殿  
【事件の表示】  
    【出願番号】 特願2003- 64735  
【補足をする者】  
    【識別番号】 000001993  
    【氏名又は名称】 株式会社島津製作所  
【代理人】  
    【識別番号】 100100561  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 岡田 正広  
【補足対象書類名】 手続補正書  
【補足の内容】 発明者相互の宣誓書を提出する。  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 宣誓書 1



【物件名】

宣誓書

【添付書類】



016

## 宣 誓 書

平成15年9月22日

下記の出願について、「乗岡 茂巳、上山 憲一、岡村 高明、中澤 隆、山口 実、安藤 英治」の6名が真の発明者であり、「網澤 進」は発明者ではないことをここに宣誓します。

## 記

1. 出願番号 特願2003-64735
2. 発明の名称 ペプチドのアミノ酸配列決定法

## 発明者

住 所 大阪府茨木市北春日丘四丁目9番1号

氏 名 乗 岡 茂 巳



住 所 大阪府大阪市此花区西九条1-29-7-902

氏 名 上 山 憲 一



住 所 大阪府大阪市天王寺区上本町1-1-16-803

氏 名 岡 村 高 明



住 所 奈良県奈良市西包永町31-404

氏 名 中 澤 隆

住 所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地  
株式会社島津製作所内

氏 名 山 口 実

住 所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地  
株式会社島津製作所内

氏 名 安 藤 英 治

住 所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地  
株式会社島津製作所内

氏 名 網 澤 進



## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願2003-064735
受付番号	20301820018
書類名	手続補足書
担当官	北原 良子 2413
作成日	平成15年11月 7日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

【提出された物件の記事】

【提出物件名】 宣誓書 1

特願 2 0 0 3 - 0 6 4 7 3 5

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 0 0 0 0 0 1 9 9 3 ]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 2 7 日

[変更理由]

新規登録

住 所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地

氏 名

株式会社島津製作所